SIEMENS

6R079UL
6R019UL
体外診断用医薬品

シクロスポリンキット

エミット®2000 シクロスポリン アッセイ
Emit®2000 Cyclosporine Specific Assay

※2013年 4 月改訂（第2版）
2008年10月作成（第1版）
自己認証番号：13A2X10031001008

この添付文書をよく読んでから使用ください。

【全般的な注意】
- 本品は体外診断用医薬品ですので、それ以外の目的に使用しないでください。
- 本品の測定結果は、患者の治療歴、臨床症状その他関連する他の検査結果等を考慮して総合的に判断ください。
- 添付文書に記載されている以外の使用方法については保証しません。
- 使用する機器の添付文書及び取扱説明書をよく読んでから使用ください。

【形状・構造等（キットの構成）】

構成試薬名　成分

試薬1　（Antibody/Substrate Reagent A）
抗シクロスポリンマウスモノクローナル抗体*
ニコチンアミドアデニンジヌクレオチド（NAD）
グルコース- 6- リン酸（G6P）

試薬2　（Enzyme Reagent B）
グルコース-6-リン酸脱水素酵素（G6P-DH）標識シクロスポリン*

＊抗体力価と酵素複合体の活性はロットごとに異なります。

【使用目的】
全血中のシクロスポリンの測定

【測定原理】
本品はホモジニアスエンザイムイムノアッセイにより、全血中のシクロスポリンの濃度を測定するための試薬で、シクロスポリンに高い特異性を有するマウスモノクローナル抗体を使用しています。
この測定原理は、抗シクロスポリンマウスモノクローナル抗体の結合部位における競合反応に基づいています。
検体中のシクロスポリンは試薬中に含まれるグルコース-6-リン酸脱水素酵素（G6PDH）で標識したシクロスポリンと競合します。この活性を持つ酵素（非結合型）は酸化型ニコチンアミドアデニンジヌクレオチド（NAD）をNADHに変換するので、その結果吸光度変化を生じ光学的に測定することができます。
酵素活性は抗体に結合することにより低下しますので、検体中のシクロスポリン濃度は酵素活性から測定することができます。補酵素は本法において使用されている細菌（*Leuconostoc mesenteroides*由来）酵素のみに作用するので、内因性の血中G6PDHに影響されません。
測定する前に、検体、キャリブレータ又はコントロールを前処理し、細胞を溶解しシクロスポリンを可溶化させ、大部分の血中蛋白を沈殿させます。検体と前処理液を混ぜ、遠心分離後の上澄み検体を測定に使用します。抽出手順については、製造販売元にお問い合わせください。
6R719UL　エミット2000 シクロスポリン検体前処理液

【操作上の注意】
※1. 測定試料の性質・採取法
- 必要な検体量は全血で100μLです。
- 最終投薬後の検体採取時間は薬物動態に係る因子に影響を与えます。これらの因子には剤形、投与方法、併用薬、薬理作用に影響する生理的変動などが含まれます。
- 抗凝固剤EDTAを含む採血管で採血ください。全血検体のシクロスポリン測定には抗凝固剤としてEDTAが最適です。ヘパリン加検体は保存中に凝固してしまう可能性があるので推奨できません。
- 新鮮な検体を使用ください。採取してから8時間以内に測定を行う場合には、室温（18～25℃）保存ください。2～8℃で1週間まで保存できます。それ以上保存したい時は、－20℃で凍結ください。全血中のシクロスポリンは、－20℃の保存で少なくとも3ヶ月間安定なことがわかっています[1,2]。測定前には凍結検体を溶解し、完全に混合ください。ただし、凍結、溶解は繰り返さないでください。凍結時に生じた不溶性物質は分注する時に避けてください。
- 保存検体は室温に戻してから使用ください。
- すべての検体は感染の恐れのあるものとして取り扱い、感染性検体取扱の予防策に従ってください[3,4]。

2. 妨害物質・妨害薬剤
- 化学的構造や治療上の使用法から交差反応が示唆される化合物の検討を行いました。試験に用いた各物質の濃度は、CLSI/NCCLSの提案する妨害物質試験のガイドラインに準じて決定されました[5]。
シクロスポリン濃度200ng/mLおよび800ng/mLにおける、これらの物質による系統誤差は10%未満です。

表1：測定に影響しない薬剤と薬剤の代謝産物

薬物	濃度（μg/mL）	薬物	濃度（μg/mL）
アセトアミノフェン	200	ケトコナゾル	70
アルブテロール	0.18	リドカイン	60
アロプリノール	60	ロバスタチン	4
アルプラゾラム	0.37	メチルプレドニゾロン	12
アミトリプチリン	20	メトクロプラミド	4
アムホテリシンB	20	ミコフェノール酸	100
アテノロール	40	ミコフェノール酸グルクロナイド	1000
アザチオプリル	10	ミソプロストール	0.015
カプトプリル	50	硫酸モルヒネ	6
カルバマゼピン	120	ムロモナブ－CD3	1
セファクロール	230	ナフロキセン	1000
クロラムフェニコール	250	ニトログリセリン	5
シメチジン	100	オメプラゾール	14
シプロフロキサシン	43	フェノバルビタール	150
シクロフォスファミド	250	フェニトイン	100
ジゴキシン	0.02	ピペラシリン	8
ジピリダモール	25	プラゾシン	3
ジソピラミド	30	プレドニゾロン	12
エリスロマイシン	200	プレドニゾン	12
エタノール	3500	プロメタジン	10
フルコナゾール	81	ラニチジン	200
フロセミド	20	ラパマイシン	0.1
ガンシクロビル	400	サリチル酸	500
ゲンタマイシン	120	サルファメトキサゾール	400
ヘパリン	8000U/L	タクロリムス	0.1
ヒドララジン	32	テオフィリン	250
ヒドロクロロチアジド	40	トリアムテレン	2.8
免疫グロブリン	5000	トリメトプリン	20
イソニアジド	70	バルプロ酸	500
イソプロテレノールヒドロクロリド	0.06	バンコマイシン	630

- 200ng/mL及び800ng/mLのシクロスポリンの存在下で、数種類の主なシクロスポリン代謝物との交差反応性を検討しました。表2に示された交差反応性は、シクロスポリン濃度から真のシクロスポリン濃度（200ng/mL）を差し引き、この数を加えた代謝物の濃度で割って求めたもので、%で表わされています。

表2：シクロスポリンとその代謝物との交差反応性

シクロスポリン濃度	シクロスポリン 200ng/mL		シクロスポリン 800ng/mL	
シクロスポリン代謝物	濃度（ng/mL）	交差反応性（%）	濃度（ng/mL）	交差反応性（%）
AM1（M17）	500	＜0.3	1000	－5.9
AM19（M8）	500	3.0	1000	－2.7
AM4N（M21）	500	＜0.3	1000	0.9
AM9（M1）	670	7.3	1000	5.5
AM1c（M18）	1000	1.0	1000	2.7
AM1c9（M26）	1000	1.9	800	－2.5
AM4n9（M13）	1000	2.0	1000	1.6

- Novartis Pharmaceuticalsによって報告された薬物相互作用に関する情報を、Physicians' Desk Reference[6]より抜粋しました。
“シクロスポリンは肝で主に代謝されるので、シクロスポリンの循環濃度は肝の酵素、特にチトクロームP-450系に作用するような薬剤によって影響されることがあります。これらの酵素を阻害することが知られている物質は、肝の代謝作用を減少させシクロスポリンレベルを増加させます。チトクロームP-450活性を誘導する物質は、肝の代謝作用を増大させシクロスポリン濃度を減少させます。これらの薬剤を使用する際には、シクロスポリン濃度のモニタリングと適切な投与量が必須になります。”

シクロスポリン濃度を増加させる薬剤		シクロスポリン濃度を減少させる薬剤
ジルチアゼム	ケトコナゾール	リファムピン
ニカルジピン	フコナゾール	フェノバルビタール
ベラパミル	イトラコナゾール	フェニトイン
ダナゾール	エリスロマイシン	カルバマゼピン
ブロモクリプチン	メチルプレドニゾロン	
メトクロプラミド		

- 以下の物質は記載の濃度まで本法を妨害しません。シクロスポリン濃度200ng/mL及び800ng/mLにおける、これらの物質による系統誤差は10%未満です。

表3：内因性物質

内因性物質	シクロスポリン アッセイ 試験濃度	シクロスポリン アッセイ－高域用 試験濃度
ビリルビン	40mg/dL	60mg/dL
コレステロール	500mg/dL	500mg/dL
トリグリセライド	3000mg/dL	1500mg/dL
尿酸	20mg/dL	20mg/dL
アルブミン	12g/dL	12g/dL
ガンマグロブリン	12g/dL	12g/dL
リウマトイド因子	500IU/mL	500IU/mL

【用法・用量（操作法）】

1. 試薬の調製法
   - 試薬は調製済みですので、冷蔵庫から取り出してそのまますぐに使用できます。
   - 使用しない時は、バイアルをしっかり閉めて保存ください。また、使用後は必ず試薬のスクリューキャップを元の容器に戻してください。
   - 試薬と緩衝液は凍結させたり、27℃以上の温度にさらさないでください。
   - 開封していない試薬は2～8℃で保存すればラベルに記載されている使用期限まで安定です。開封後は、2～8℃で垂直に立てて、ふたをきつく閉めて保存すれば、12週間又はラベルに記載されている使用期限内まで安定です。試薬とキャリブレータの不適切な保管は、測定に影響を及ぼします。
   - 試薬が黄色を呈していたら、品質の低下が考えられますので廃棄ください。
2. 必要な器具・器材・試料等
   - 本品は各種の自動分析装置に使用できます。本品は、反応時間を一定に保ち、検体や試薬の採取と酵素活性の測定を精密に行い、反応時間の設定が正確で試薬を完全に混和できる自動分析装置を使用ください。測定パラメーター及び詳細な操作方法は別途用意されています。弊社担当者又はコールセンターにお問い合わせください。
   - （別売）エミット2000 シクロスポリン キャリブレータ（0*、50、100、200、350、500ng/mL）
     （Emit2000 Cyclosporine Specific Calibrators）
     ＊高濃度検体の希釈用に余分量が入っています。
   - （別売）CSAE標準液（0、200、400、800、1400、2000ng/mL）
     （Siemens Healthcare Diagnostics CSAE Calibrators）
   - （別売）エミット2000 シクロスポリン 前処理液
     （Emit2000 Cyclosporine Sample Pretreatment Reagent）
   - 前処理を実施する場合は次のものが必要です。
     ＊メタノール（HPLC グレード）
     ＊200µL又は300µL用マイクロピペット又はエッペンドルフリピーター（メタノール用）
     ＊100µL又は200µL用マイクロピペット（検体用）
     ＊エッペンドルフコンビチップ（5mL）（エッペンドルフリピーターを使用する際に必要）
     ＊マイクロ遠心機用試験管（容量1.5～2.0mL）
     ＊マイクロ遠心機・マイクロ遠心機用試験管ラック
     ＊ボルティックスミキサー
     ＊実験室用ティッシュ
     その他：
     ＊マルチレベル全血用コントロール
3. 測定法
   - 使用する自動分析装置の取扱説明書及び各パラメーターを参照ください。
   - キャリブレータ、全血コントロール及び全血は、測定前に同様方法により前処理を実施ください。別売のエミット2000 シクロポリン前処理液の使用説明書を参照ください。
4. キャリブレーション
   ⑴試薬のロットが新しくなった時あるいはコントロールの結果を参照して必要があれば必ずキャリブレーションを実施ください（【用法・用量】の5. 精度管理の項参照）。機器のメンテナンス中に機器に重要な変更（分注システムや光学系の変更等）があった場合は再度キャリブレーションを実施ください。
   ⑵システムが取扱説明書の指示に従って正しく作動することを確認ください。
   ⑶検体の前処理プロトコールに従ってエミット2000 シクロスポリンキャリブレータを前処理ください。キャリブレータは検体とコントロールと一緒に前処理できます。
   ⑷前処理済みのキャリブレータを自動分析装置のキャリブレータラックに置き、取扱説明書の指示に従って測定ください。
   ⑸2濃度又は3濃度の各コントロールが許容範囲以内にあれば、そのキャリブレーションを使用します。（【用法・用量（操作法）】の5. 精度管理の表4及び5コントロールの許容範囲を参照）
5. 精度管理
   ⑴一時的なコントロールの許容範囲の設定
   1）最初のキャリブレーション後、2濃度以上のコントロールを3重測定ください。高濃度から低濃度の順に測定することをお勧めします。測定者のエラーや機器の不調によって生じた結果、また統計外（statistical outlier test）のデータにより除外する以外は、コントロール結果はすべて保存ください。
   2）1）に示したようにキャリブレーション、コントロール測定、コントロール結果の記録を更に2回繰り返してください。3重測定から各レベルにおける9つの結果が記録されます。
   3）各コントロールレベルの平均濃度を9つの結果から算出ください。
   4）3）で述べたように算出された平均コントロール値を使用し、また表4及び5を参考にして各コントロールレベルの一時的なコントロールの許容範囲を設定ください。
   例えば、平均コントロール値が100ng/mLであれば、コントロールの許容範囲は70ng/mL（－30%）～130ng/mL（＋30%）です。

表4：コントロールの許容範囲（シクロスポリン測定範囲：～500ng/mL）

コントロール[a]	平均コントロール値（ng/mL）	許容範囲
低[b]	50～100	平均値±30%
	101～150	平均値±20%
中	151～300	平均値±20%
高	301～400	平均値±20%

表5：コントロールの許容範囲（シクロスポリン高域用：350ng/mL～2000ng/mLまで）

コントロール[a]	平均コントロール値（ng/mL）	許容範囲
低	401～800	平均値±20%
中	801～1400	平均値±20%
高	1401～1900	平均値±20%

a.2濃度（低と高）又は3濃度のコントロールを使用ください。
b.低濃度のコントロールだけを測定ください。もし低濃度コントロール値が50～100ng/mL内であれば、許容範囲を平均±30%に設定ください。もし101～150ng/mL内であれば、許容範囲を平均±20%に設定ください。

   5）患者検体を測定する時は、設定した一時的なコントロールの許容範囲を少なくとも30日間使用ください。長期的なコントロールの許容範囲を設定するためには、一時的な許容範囲を使用している間に、各コントロールレベルで最低20の測定値を集めて、少なくとも10日毎にキャリブレーションを実施ください。
   注：一時的なコントロールの許容範囲は30日間使用されるべきですが、もし一時的な許容範囲と比較してコントロールが一定の測定値の偏りを示すようならば、上記の1.から5.を繰り返して一時的なコントロールの許容範囲を再設定ください。もし一時的なコントロールの許容範囲を設定することが困難であれば、製造販売元にお問合せください。

   ⑵長期的なコントロールの許容範囲
   1）一時的な許容範囲を使用している30日間に、各コントロールレベルで最低20の測定値を集めてください。測定は濃度の高い方から低い方へ実施することをお勧めします。測定者のエラーや機器の不調によって生じた結果、また統計外の測定（statistical outlier test）により除外する時以外は、コントロール結果はすべて保存ください。
   2）1）で集めた結果と一時的な許容範囲を設定した際に得られた9つの結果を含めて、各レベルのコントロール濃度の平均値と標準偏差を再計算します。
   3）長期的なコントロールの許容範囲は、平均値の±2.25SDで設定します。もし平均の±2.25SDが平均の±12%未満であれば、長期的なコントロールの許容範囲を平均の±12%に設定ください。もし平均の±2.25SDが平均の±25%以上であれば、長期的なコントロールの許容範囲を平均の±25%に設定ください。少なくとも20個の検量線を一度得たら、各コントロールレベルの平均を算出し、標準偏差に2を掛けて長期的なコントロールの許容範囲を再設定ください。
   4）新ロットのコントロールを使用する場合には必ず新規にコントロー

ルの許容範囲を設定ください。前のコントロールを使用して確認された新しいコントロールを20回測定し、新しい許容範囲を設定することができます。

※⑶日常の精度管理

精度管理の頻度については、行政当局の規制又は許可条件に従ってください。既知濃度の精度管理物質を少なくとも1日1回、2濃度測定ください。測定結果が許容範囲外の場合は、各施設の手順に従い対処ください。

6. 高濃度検体について

全血の高濃度検体を陰性の全血キャリブレータを使用して次のような手順で希釈します。

⑴陰性の全血キャリブレータと全血の高濃度検体を使用直前に静かに完全に混合します。

⑵全血検体の1容量と陰性の全血キャリブレータの2容量を合わせます。

⑶転倒混和を繰り返して溶液を完全に混合します。

⑷前処理の手順に従って希釈した全血検体を前処理し測定します。

⑸測定結果に3を乗じて、シクロスポリン測定濃度を算出します。

【測定結果の判定法】

1. 測定結果の判定
   - 結果は測定機器により自動的に計算されます。マニュアルで希釈した検体を使用する場合以外は、何ら操作は必要ありません。
   - 詳細については使用機器の取扱説明書及び測定操作法を参照ください。
2. 判定上の注意
   - 本品は全血中のシクロスポリン測定用の体外診断用医薬品で、血清や血漿中のシクロスポリンの測定には使用できません。
   - 測定結果は常に、患者の病歴、臨床症状及び他の所見を考慮して解釈ください。
3. 参照治療域

全血中のシクロスポリンに対する明確な治療濃度範囲はありません。臨床状態の複雑さ、シクロスポリンの免疫抑制と腎毒性に対する感受性の個人差、採血の時間、その他の免疫抑制剤との併用投与、移植のタイプ、移植後の経過時間、及びその他の多くの要因によって、様々なシクロスポリンの最適血中濃度が要求されます。シクロスポリン値単独では治療内容を変更する際の指標にはできません。各患者は治療が開始される前に、臨床的に正しく評価されるべきであり、各施設は、臨床経験に基づいたそれぞれの治療濃度域を確立する必要があります。また、治療濃度域は使用される市販の測定試薬によって幅がありますので、使用される各市販の測定試薬毎に設定される必要があります。異なる測定試薬による値は測定法や代謝物との交差反応性が違うために、代用することはできません。また相関データから得られた換算係数も使用できません。患者ごとに1つの測定試薬を一貫して使用することをお勧めします。

本品の臨床的検討は、心臓、腎臓及び肝臓の移植患者において3ヶ所の研究施設で実施され、4ヶ所目では腎臓と肝臓の移植患者において検討されました。各施設で、シクロスポリン血中濃度が連続でモニターされました。

132名の患者（30名：心臓移植、65名：腎臓移植、37名：肝臓移植）がこの検討に含まれており、分析した血液検体数は4000以上になります。患者は37日から312日間、平均127日間（4.1ヶ月間）フォローされました。治療内容は施設や患者によって異なります。

表6は本品による26名の患者（9名：心臓移植、6名：腎臓移植、11名：肝臓移植）の結果を時間を追って検討したものです。これらの患者は慢性・急性拒絶反応や腎毒性がなく、血清クレアチニン濃度が2mg/dLを超えることもありませんでした。血清クレアチニンの正常上限値は1.7mg/dLですが、移植患者では外科的処置と様々な腎毒性のある薬剤の影響によるいろいろなファクターが組み合わさることでその血清クレアチニン濃度が高くなることを考慮して、血清クレアチニンの正常上限値を2mg/dLとしました。表6にはある期間毎に測定された患者の平均シクロスポリン測定値をまとめました。全患者が各期間中に測定されたわけではありません。

下記のデータは、エミット2000 シクロスポリン アッセイの抽出手順を用いてCOBAS MIRA®分析装置により収集しました。

表6：拒絶反応、腎毒性又は血清クレアチニン上昇のなかった患者におけるシクロスポリン値経過表

期間	腎臓（6名）			肝臓（11名）			心臓（9名）		
	N	平均値 (ng/mL)	SD (ng/mL)	N	平均値 (ng/mL)	SD (ng/mL)	N	平均値 (ng/mL)	SD (ng/mL)
1週目	5	123	47	9	330	126	9	279	89
2週目	6	240	132	10	254	117	9	402	141
3週目	6	359	149	11	288	46	8	527	187
4週目	6	289	180	11	250	111	9	386	122
2ヶ月目	6	270	122	10	230	68	9	337	148
3ヶ月目	6	205	77	11	276	104	8	343	226
4ヶ月目	5	200	56	10	224	83	8	315	127

表7は、表6と同様の患者26名の本品での測定値一覧で、一人の患者での複数の測定値も含まれています。

表7：拒絶反応、腎毒性又は血清クレアチニン上昇のなかった患者におけるシクロスポリン測定値

シクロスポリン値（ng/mL）	腎臓（6名）		肝臓（11名）		心臓（9名）	
	N	%	N	%	N	%
＜50	1	0.6	9	2.5	6	1.9
50～100	10	6.4	5	1.4	16	5.1
100～150	26	16.7	39	10.9	17	5.4
150～200	34	21.8	64	17.9	17	5.4
200～250	26	16.7	70	19.6	32	10.2
250～300	24	15.4	52	14.5	37	11.8
300～350	16	10.3	48	13.4	36	11.5
350～400	5	3.2	31	8.7	33	10.5
400～450	3	1.9	17	4.7	40	12.7
450～500	5	3.2	9	2.5	26	8.3
500～550	3	1.9	2	0.6	10	3.2
550～600	0	0	0	0	10	3.2
＞600	3	1.9	12	3.4	34	10.8

表7のデータを見た限りでは、拒絶反応、腎毒性又血清クレアチニンの上昇とは関係なく測定結果の大部分がある濃度範囲に含まれていました。腎移植患者では、測定数の81%が100～350ng/mLの間に入っていました。同様に、肝臓移植患者でも測定数の76%が100～350ng/mLの間に入っていました。9名の心臓移植患者のうち同じ病院で治療を受けた5名が、他の病院で治療された4名に比べて血中のシクロスポリン濃度が非常に高かったので、心臓移植患者の代表的な濃度範囲は決定しませんでした。上記に示されたデータからは、どんなものにも当てはまるような結論を導き出すことはできません。

表8及び表9に示した%の計算に使用された代表的検体は次のように選択しました。拒絶反応か腎毒性のどちらかを経験した患者では、発症の直前（1週間以内）に採取された検体を選択しました。拒絶反応を経験していない患者と腎毒性を経験していない患者では、最初の月は1週間毎に1検体、次の2ヶ月は1月毎に1検体を計算に含めました。

表8：拒絶反応を経験した患者数と%

シクロスポリン値	患者数	拒絶反応患者数	拒絶反応患者の%	95%信頼範囲
心臓				
＜200ng/mL	13	4	30.8%	5.7～55.9%
≧200ng/mL	87	8	9.2%	3.1～15.3%
腎臓又は肝臓				
＜100ng/mL	20	2	10%	−3.1～23.1%
≧100ng/mL	314	20	4.6%	3.7～9.1%

表9：腎毒性を経験した患者数と%

シクロスポリン値	患者数	腎毒性患者数	腎毒性患者の%	95%信頼範囲
心臓				
＜500ng/mL	115	4	3.5%	0.1～6.8%
≧500ng/mL	28	3	10.7%	−0.7～22.2%
腎臓				
＜350ng/mL	264	7	2.7%	0.7～4.6%
≧350ng/mL	21	1	4.8%	−4.3～13.9%
肝臓				
＜350ng/mL	126	4	3.2%	0.%～6.2%
≧350ng/mL	35	4	11.4%	0.9～22%

表8と表9に示された傾向は予測された結果（例：低シクロスポリン濃度で拒絶反応率が高く、高シクロスポリンレベルで腎毒性が高い）と一致していましたが、検体数が少ないためすべてに適用される結論を出すことはできません。

【臨床的意義】

シクロスポリンは真菌に由来する環状の11個のペプチドからなる強力な免疫抑制剤です。1983年に導入されて以来、シクロスポリンは心臓、腎臓、肝臓、膵臓、肺等の臓器移植を受けた患者自身の生存と、その移植臓器の生着に著しい改善をもたらし、多くの研究で移植臓器の拒絶を抑えるシクロスポリンの効果が立証されてきました。

シクロスポリンの投与量と血中レベルが不充分であれば移植臓器の拒絶されることがあり、シクロスポリンの中毒レベルは、腎・肝毒性やその他の様々な合併症を含む多くの重大な副作用に関連してきます。医師は腎移植にシクロスポリンを使用する時、特にその腎毒性の影響に注意を払います。なぜならば、この影響が臓器拒絶反応なのか、シクロスポリンの毒性なのかを明確に区別することが難しいからです[7,8]。

全血中の未変化体のシクロスポリン濃度をモニタリングし、他の検査データや臨床評価と関連させてこのシクロスポリン濃度を解釈することは、臓器移植の患者にとって適切な免疫抑制療法を実施するために最も有効な方法です。

薬剤は急速に赤血球に浸透するので、血漿よりも全血の方がシクロスポリン測定に適しています。30種類以上のシクロスポリン代謝産物は免疫

抑制や毒性への関わりが確立されていないので、シクロスポリン濃度はその未変化体の薬剤に特異性の高い方法で測定されるべきです。
従来のシクロスポリン濃度のモニタリングは、朝の投与前の検体を用い、全血トラフ値を測定するものでした[9]。このモニタリング方法は、1995年のLake Louise Consensus Conferenceにて推奨されました[10]。最近の新しい研究により、複数検体を測定して、血中濃度-時間曲線下面積（AUC）を求めるほうが、臓器移植成果のよりよい指標となることが示唆されました[11]。しかし、複数検体の採取は、大部分の患者、特に長期治療患者に対して実用的ではありませんでした。そこでシクロスポリンマイクロエマルジョン（ネオーラル®）の導入とともに、モニタリング方法の最適化が計られ、単一検体について投与後2時間の時点での血中濃度（C2）を測定するモニタリング方法が提唱されました[12]。
血中のシクロスポリン濃度をモニタリングするために従来から用いられている方法には、高速液体クロマトグラフィー（HPLC）、ラジオイムノアッセイ（RIA）及び蛍光偏光イムノアッセイ（FPIA）があります。

【性能】
1. 性能
⑴感度
シクロスポリン濃度50ng/mL及び500ng/mLの標準液を測定する時、吸光度変化量の差は0.015以上です。
⑵正確性
シクロスポリン濃度既知の管理用検体を測定する時、既知濃度の80～120%です。
⑶同時再現性試験
シクロスポリン濃度既知の異なる2種類の検体を各々5回同時に測定する時、測定値のCV値は15%以下です。
⑷測定範囲
本品による全血中のシクロスポリン濃度の測定範囲は、40～500ng/mLです。シクロスポリン1500ng/mLまでは、検体を希釈し、測定した結果に希釈倍数を掛けることで推定することができます。（【用法・用量】の6.高濃度検体についての項を参照）
2. 相関性
患者の全血シクロスポリン濃度について移植直後から開始し、およそ3ヶ月後までモニターしました。施設1では腎臓及び肝臓の移植患者についてモニターしました。施設2、3及び4では腎臓、肝臓及び心臓の移植患者についてモニターしました。
検体はエミット2000シクロスポリン アッセイと二つの対照方法、特異的モノクローナル抗体を用いたラジオイムノアッセイ（RIA）及び高速液体クロマトグラフィー（HPLC）を用いて測定されました。結果は表10のとおりです。
表10：相関性データ

施 設	傾き	切片	相関係数	推定標準誤差	検体数	患者数	x平均	y平均
RIAとエミットの比較								
施設1	0.82	24	0.968	26.78	593	21	269.9	245.1
施設2	0.91	−4	0.934	40.43	1113	37	265.1	236.6
施設3	0.79	8	0.929	35.69	786	38	309.7	252.5
施設4	0.84	13	0.981	24.56	1650	40	311.3	257.9
HPLCとエミットの比較								
施設1	1.02	24	0.965	25.39	595	21	217.5	244.9
施設2	1.14	−3	0.917	39.71	1113	37	205.7	231.9
施設3	0.92	9	0.828	50.68	1030	38	277.7	263.1
施設4	1.05	12	0.975	25.33	1645	40	252.6	277.0
HPLCとRIAの比較								
施設1	1.24	0	0.976	23.66	595	21	220.1	272.7
施設2	1.29	−3	0.912	43.17	1045	37	207.9	265.3
施設3	1.12	−1	0.818	59.09	663	38	279.5	312.2
施設4	1.24	−1	0.977	26.38	1648	40	252.6	312.5

表10の相関性データは、多施設で行われた測定の結果を示しています。
相関性データの相違は、どれかひとつの測定方法あるいは複数の測定方法が用いられている場合において施設間差として一般的に見られるものです。この相関性データもしくは他の補正係数は異なった測定方法間の値を変換する為に用いるべきではありません。どのような測定方法の比較であってもきちんとした測定方法の標準化が確立された後に行わなければなりません。
3. 精密性
精密性の一時的な評価ガイドラインとして推奨されているCLSI/NCCLS（the National Committee for Clinical Laboratory Standards）に準じて本品の同時再現性とトータル再現性の検討を3施設で実施しました[13]。バイオラッド社製の3濃度コントロールを、1日2回、20日間3重測定しました（n=120）。トータル再現性は9回、2台の機器（COBAS MIRA®とCOBAS MIRA® S）を使用して3ロットで行いました。
表11に各コントロールの平均値（n=9）、標準偏差（SD）及び変動係数（CV%）を示します。
表11：再現性

コントロールレベル (ng/mL)[c]	Within-run (同時再現性)		Total (再現性)	
	SDレンジ	CV%レンジ	SDレンジ	CV%レンジ
72	4.4～8.5	6～11.8	7.6～13.8	10.4～19.1
178	6.9～11.2	4～6.2	10.7～16.8	6～10
414	14.8～26.1	3.8～6.1	26.9～35.6	6.3～8.5

c.9回の平均値は、3台の機器で、3ロットの試薬を用いて求めました。各ロットの試薬では別々のキャリブレータを使用しました。レベル1の平均は63.3～77.8ng/mL、レベル2は166.7～187.4ng/mL、レベル3は390.6～436.1ng/mLのレンジでした。
COBAS MIRA® PLUSを使用した社内での再現性テストは、COBAS MIRA®とCOBAS MIRA® Sを使用したものと同等でした。
4. 回収率
シクロスポリンの回収率をシクロスポリンフリーの全血にシクロスポリンを加えて検討しました。全血にシクロスポリン85ng/mLと425ng/mLを添加し、それぞれ3つに分け前処理をし、10回ずつ測定を実施しました。結果は表12のとおりです。
表12：回収率の検討

調製濃度（ng/mL）	85	425
平均測定値（ng/mL）の範囲	82.5～90.7	408.4～459.4
回収率（%）の範囲	97～106.7%	96.1～108.1%

検体からのシクロスポリンの回収率におけるヘマトクリット値の影響を見るために別の検討を実施しました。血漿に血球を加えてヘマトクリット値が15～59%の5つの全血検体を作成し、それぞれの検体に見かけ上の濃度が75ng/mLと425ng/mLのシクロスポリンを加えて測定しました。表13からもわかるように、ヘマトクリット値のシクロスポリン回収率に及ぼす影響は無視できるものでした。
表13：シクロスポリン回収率に及ぼすヘマトクリット値の影響

ヘマトクリット（%）	15	26	37	46	59
75ng/mL シクロスポリン 回収率（%） CV（%）	 109 5	 104 6.3	 111 4.1	 115 3.3	 111 7.4
425ng/mL シクロスポリン 回収率（%） CV（%）	 91.3 6.4	 97.7 5.3	 97.5 7.5	 101 7.9	 101 8.7

5. 直線性
直線性の評価ガイドラインとして推奨されているCLSI/NCCLS[14]に準じて本品の直線性を検討した結果、40～500ng/mLまでの直線性が得られました。結果は表14のとおりです。
表14：直線性の検討

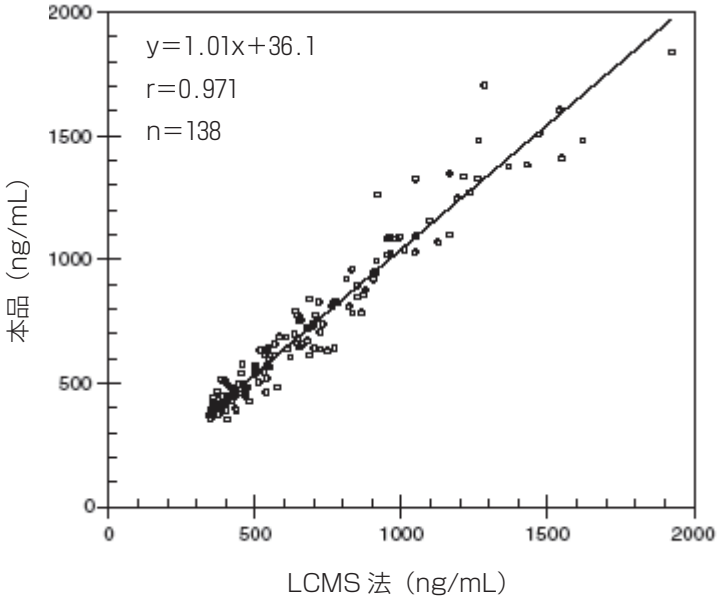
	COBAS MIRA® Plus	COBAS MIRA®	COBAS MIRA® S
N	20	20	20
傾き	0.97	0.98	1.05
Y切片	-4.5	3.9	-13.3
p値	0.82	0.70	0.72

6. 分析感度
本法は0 ng/mLと95%の信頼範囲で区別できる最小濃度は40 ng/mLです。
7. 較正用の基準物質（標準物質）
Cyclosporine（USP）
8. シクロスポリン濃度（350～2000ng/mL）で本品の性能を評価した結果は以下のとおりです。
1）測定範囲
本品による全血中のシクロスポリン高域濃度の測定範囲は、350～2000ng/mLです。
2）相関性
本品の相関性の検討は心臓、肝臓及び腎臓の移植患者において2箇所の施設で実施しました。患者検体は液体クロマトグラフ・質量分析装置（LC／MS法）及び他社製品（競合法を利用したFPIA法）を用いて分析しました。表15に相関性データを示します。
表15：相関性データ（高濃度域）

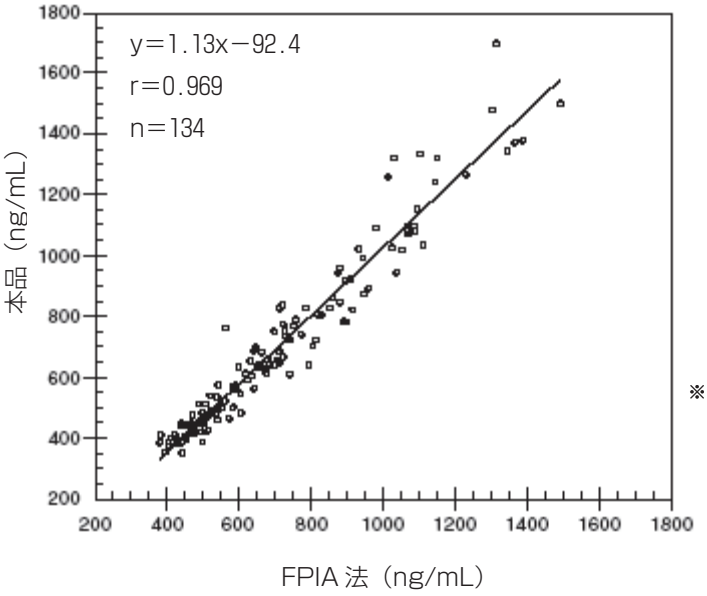
比較法	傾き	切片	相関係数（r）	患者数
LC／MS法				
全体[d]	1.01	36.1	0.971	138
心	1.04	19.0	0.989	33
肝	1.00	42.1	0.971	40
腎	1.14	-49.0	0.951	59
FPIA法				
全体[d]	1.13	-92.4	0.969	134
心	1.12	-86.6	0.976	33
肝	1.14	-102	0.982	40
腎	1.15	-113.6	0.950	59

d 高濃度測定範囲における相関のため移植患者検体を追加しています。

LC／ MS法との相関性



FPIA法との相関性



3)精密性

精密性の一般的な評価ガイドラインとして推奨されているCLSI/NCCLSに準じて本品の同時再現性と日差再現性の検討を実施しました[15]。3濃度コントロールを、1日2回、20日間2重測定しました（n=80）。

表16に各コントロールの平均値、標準偏差（SD）及び変動係数（CV%）を示します。

表16：再現性

コントロールレベル (ng/mL)	Within-run (同時再現性)		Total (再現性)	
	SD	CV%	SD	CV%
402.8	16.3	4.0	29.3	7.3
887.7	29.0	3.3	52.2	5.9
1429.5	69.2	4.8	124.7	8.7

4)回収率

シクロスポリンの回収率をシクロスポリンフリーのEDTA加全血に未変化体シクロスポリンを加えて検討しました。全血がシクロスポリン濃度500ng/mL、1000ng/mL、及び1750ng/mLになるように調製し、それぞれ4つに分け前処理をし、5回ずつ測定しました。結果は表17のとおりです。

表17：回収率の検討

調製濃度（ng/mL）	500	1000	1750
平均測定値（ng/mL）の範囲	485	1037	1852
回収率（%）	97%	104%	106%

シクロスポリンの回収率におけるヘマトクリット値の影響について試験を実施しました。ヘマトクリット値が15～67%の4種の全血検体を作成し、各々に800ng/mLのシクロスポリンを添加しました。測定の結果、ヘマトクリット値のシクロスポリン回収率に及ぼす影響は無視できるものでした。

表18：シクロスポリン回収率に及ぼすヘマトクリット値の影響

ヘマトクリット（%）	ブランク	15	28	45	67
平均測定値（ng/mL）	929.0	932.0	1008.9	993.8	930.5
回収率（%）	−	100.3	108.6	107.0	100.2

5)直線性

直線性の評価ガイドラインとして推奨されているCLSI/NCCLS[15]に準じて本品の直線性を検討した結果、350～2000ng/mLまでの範囲で直線性が得られました。結果は表19のとおりです。

表19：直線性の検討

傾き	1.022
Y切片	3.80
r	0.998

6)実効感度（高域濃度）

本法のシクロスポリン高域濃度の実効感度は350ng/mLです。実効感度は測定間変動係数の20%未満より求めました。

【使用上又は取扱い上の注意】

1. 取扱い上（危険防止）の注意
- 試料（検体）はHIV、HBV、HCV等の感染の恐れがあるものとして取り扱ってください。検査にあたっては感染の危険を避けるため使い捨て手袋及び保護衣を着用し、また口によるピペッティングを行わないでください。
- 本品を使用後は十分に手を洗ってください。
- 本品を取り扱う場所では、飲食や喫煙、化粧をしないでください。
- キャリブレータとコントロールはヒトの血液成分を含んでいます。各ロットはHIV抗体とHBs抗原検査を実施し陰性の結果を得ていますが、ヒト由来の試薬は常に感染の恐れがあるものとして取り扱ってください。
- メタノールは必要な試薬ですが本品には含まれていません。メタノールは検体からシクロスポリンを抽出するために使用される可燃性の試薬です。摂取したり皮膚に触れないようにしてください。
- 試薬はアジ化ナトリウム（0.1%）を含んでいますので、誤って飲み込んだり皮膚や粘膜にふれないようにしてください。もし、皮膚に付着した場合は、大量の水で洗い流すなどの応急処置を行い、必要があれば医師の手当て等を受けてください。
- このキットにはストレプトマイシン硫酸塩が含まれていますので、適切に処分してください。

※2. 使用上の注意
- 本品は凍結を避け、貯蔵方法に従い保存ください。
- 使用期限を過ぎた試薬は使用しないでください。
- 試薬1と試薬2はセットとして調製されていますので、別のロットの試薬と交換して用いることはできません。
- 本品は、各種自動分析装置で使用できることを確認しています。使用者が行った変更は本品の性能や測定結果に影響することがあるので保証できません。添付文書に記載されている使用方法の変更の確認は、使用者の責任において行ってください。
- 同一ロットであっても試薬の注ぎ足しはしないでください。
- 廃棄上の注意：−試料（検体）中にはHIV、HBV、HCV等の感染性のものが存在する場合がありますので、廃液、使用済み器具などは適当な消毒処理あるいは滅菌処理を行ってください。
  −保存剤としてアジ化ナトリウム（0.1%）を含んでいます。アジ化ナトリウムは銅や鉛等の重金属と反応して爆発性のアジ化塩を形成することがありますので、廃棄の際は各法令に従いゆっくりと大量の水で洗い流してください。
  −残った試薬や検体を廃棄する場合には、医療廃棄物に関する規定に従って、医療廃棄物又は産業廃棄物等区別して処理ください。
  −試薬類や廃液などが飛散した場合には、拭き取りと消毒を行ってください。

【貯蔵方法・有効期間】

貯蔵方法：2～8℃保存
有効期間：1年間（使用期限は外箱に表示）

【包装単位】

6R079UL　試薬1／試薬2　22mL×1／11mL×1
6R019UL　試薬1／試薬2　16mL×1／　8mL×1

※【主要文献】

1. Schran HF et al: Determination of cyclosporine concentrations with monoclonal antibodies. *Clin Chem*

1987;33:2225-2229.
2. Wong PY et al: Quality assessment of cyclosporine monitoring-Canadian validations. *Transplant Proc* 1990;22:1216-1217.
3. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, JY Richmond, RW McKinney, (eds). Atlanta, GA, US Dept of Health and Human Services, Public Health Service, Centers for Disease Control and Prevention; Bethesda, MD, National Institutes of Health, 1993.
4. Occupational Exposure to Bloodborne Pathogens; Final Rule. Federal Register. Part II; Department of Labor, Occupational Safety and Health Administration; 29 CFR Part 1910.1030; Friday, December 6, 1991.
5. Clinical and Laboratory Standards Institute/NCCLS. Interference testing for clinical chemistry. CLSI/NCCLS proposed guideline EP7-P, February 1982. Clinical and Laboratory Standards Institute, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne Pennsylvania 19087-1898, USA.
6. *Physician's Desk Reference*, ed 57. Montvale, NJ, Thompson PDR, 2003, pp 2310-2312.
7. McMillan MA: Clinical pharmacokinetics of cyclosporin. *Pharmac Ther* 1989;42:135-156.
8. Kahan BD: Cyclosporine. N Engl *J Med* 1989;321: 1725-1738.
9. Keown Paul A: *New concepts in cyclosporine monitoring*. Current opinion in nephrology and hypertension (England), Nov 2002, 11, (6), p619-26.
10. Oellerich, M et al: Lake Louise Consensus Conference on Cyclosporine Monitoring in Organ Transplantation: Report of the Consensus Panel. *Therapeutic Drug Monitoring*. 17:642-654 1995.
11. Holt David W: *Therapeutic drug monitoring of immunosuppressive drug in kidney transplantation*. Current opinion in nephrology and hypertension, Nov 2002, 11, (6), p657-663.
12. Levy G A: C2 Monitoring Strategy for Optimising Cyclosporin Immunosuppression from the Neoral formation. BioDrugs-2001, 15, (5), p279-90.
13. Clinical and Laboratory Standards Institute/NCCLS. *Evaluation of Precision Performance of Clinical Chemistry Devices*; Approved Guideline- Second Edition. CLSI/NCCLS document EP5-T2, March 1992. Clinical and Laboratory Standards Institute, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne Pennsylvania 19087-1898, USA.
14. Clinical and Laboratory Standards Institute/NCCLS. *Evaluation of the linearity of quantitative analytical methods*. CLSI/NCCLS proposed guideline EP6-P, August 1986. Clinical and Laboratory Standard Institute, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne Pennsylvania 19087-1898, USA.
15. Clinical and Laboratory Standards Institute/NCCLS. *Evaluation of Precision Performance of Clinical Chemistry Devices*; Approved Guideline-Second Edition. CLSI/NCCLS document EP5-A. Clinical and Laboratory Standards Institute, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne Pennsylvania 19087–1898, USA.

※【問い合わせ先】
シーメンスヘルスケア・ダイアグノスティクス株式会社
カスタマーケアセンター
TEL:03-3493-8400

製造販売元
シーメンスヘルスケア・ダイアグノスティクス株式会社
※ 東京都品川区大崎1-11-1
ゲートシティ大崎ウエストタワー

DL-117-019G
（6R004UL.16DS_US_C）